

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

E.A.P. DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**“Comparación de una prueba rápida y una prueba de
amplificación mediada por transcripción para el
diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis*
utilizando hisopados endocervicales”**

TESIS

**Para optar el Título Profesional de Licenciada En Tecnología Médica en el
Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica**

AUTOR

Dina Cecilia Florencia Rojas Páez

ASESOR

Jose Antonio Paredes Arrascue

Lima – Perú

2014

A mis padres, Dina y Francisco,
Por su amor, entrega y apoyo incondicional

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores por sus enseñanzas y apoyo en la realización de esta investigación

Al personal del UCLA-Laboratorio de Salud Sexual, LID – UPCH

Al personal del consultorio de Ginecología del HN2M

Al personal del C.S. Alberto Barton

A cada una de las pacientes que proporcionaron sus muestras

ÍNDICE

RESUMEN-----	3
SUMMARY -----	5
I. INTRODUCCIÓN -----	7
II. MARCO TEÓRICO -----	9
III. OBJETIVOS -----	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS-----	15
1. DISEÑO Y LUGAR DE ESTUDIO-----	15
2. POBLACION Y TAMAÑO DE MUESTRA -----	15
3. MATERIALES -----	17
4. MÉTODOS -----	17
5. ANÁLISIS DE DATOS -----	30
V. RESULTADOS -----	31
VI. DISCUSIÓN -----	36
VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES -----	40
VIII. BIBLIOGRAFÍA -----	40
IX. ANEXOS	
ANEXO 1 -----	48
ANEXO 2-----	52
ANEXO 3-----	53
ANEXO 4-----	55

RESUMEN

La infección por *Chlamydia trachomatis* es la infección de transmisión sexual bacteriana más frecuente en todo el mundo. La Organización Mundial de la Salud estima que 90 millones de casos ocurren a nivel mundial.

El objetivo de este estudio fue evaluar el desempeño de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA para el diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis* en muestras de secreción endocervical de mujeres usuarias que asisten al consultorio de planificación familiar del “Hospital Nacional Dos de Mayo” y trabajadoras sexuales del servicio PROCETTS del Centro de Salud “Alberto Barton”.

Se estudiaron un total de 101 muestras de secreción endocervical, 50 muestra de mujeres que asistieron al consultorio de planificación familiar del “Hospital Nacional Dos de Mayo” y 51 muestras de trabajadoras sexuales del servicio PROCETTS del Centro de Salud “Alberto Barton”. A todas las mujeres se les tomó dos muestras de secreción endocervical, una de las muestras fue procesada por la prueba rápida inmunocromatografica HEXAGON CHLAMYDIA en evaluación y la otra por una prueba validada de amplificación de los ácidos nucleicos (nucleic acid amplification, NAATs, por sus siglas en inglés): APTIMA

COMBO 2 basada en la metodología de amplificación mediada por transcripción (transcription mediated amplification, TMA, por sus siglas en inglés)

Se detectaron 4 casos de infección por *C. trachomatis*, todos estos casos se encontraron en el grupo de usuarias del consultorio de planificación familiar mientras en el grupo de trabajadoras sexuales no se encontró ninguno. La sensibilidad y la especificidad de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA fue 75% y 84,5%. El valor predictivo positivo fue 16,7% y el valor predictivo negativo fue 98,7%. El valor Kappa fue 0,21.

La prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA en este estudio tuvo un pobre desempeño al ser comparada con la prueba APTIMA COMBO 2

Palabras claves: *Chlamydia trachomatis*, NAAT, point-of-care, trabajadoras sexuales.

SUMMARY

Infection with *Chlamydia trachomatis* is the most common bacterial sexually transmitted worldwide. The World Health Organization estimates that 90 million cases occur worldwide.

The objective in this study was to evaluate the performance of point of care HEXAGON CHLAMYDIA for the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection in endocervical secretion samples from women who attended in the family planning service of "Hospital Nacional Dos de Mayo" and female sex workers who attend in the PROCETSS service of "Alberto Barton" Health Center.

A total of 101 endocervical secretion samples were collected, 50 sample from women who attended family planning service of "Dos de Mayo" Hospital and 51 samples from female sex workers that were attended in PROCETTS service of "Alberto Barton" Health Center. All women were taking two samples of endocervical secretion; one swab was tested with point of care Hexagon Chlamydia and the other swab was validated test nucleic acid amplification (NAAT): APTIMA COMBO 2 based on transcription mediated amplification reaction (TMA).

Four cases of *C. trachomatis* were detected; all these cases were found in women who attended in the family planning service while in the group of female sex workers no cases were detected. The sensitivity and specificity of the point of

care HEXAGON CHLAMYDIA were 75% and 84,5% respectively. The positive predictive value was 16,7% and negative predictive value was 98,7%. The Kappa value was 0,21.

The point of care HEXAGON CHLAMYDIA had a poorly performance when was compared to the APTIMA COMBO 2 (TMA).

Key words: *Chlamydia trachomatis*, NAAT, point-of-care, sex workers.

I. INTRODUCCIÓN

La infección por *Chlamydia trachomatis*, es la infección de transmisión sexual (ITS) bacteriana más prevalente a nivel mundial [1].

El diagnóstico de esta infección está mejorando a medida que surgen metodologías más sensibles de amplificación de ácidos nucleicos (nucleic acid amplification test, NAAT por sus siglas en ingles) que han aumentado sustancialmente la sensibilidad de detección de *C. trachomatis* [2].

Sin embargo, el alto costo, la necesidad de un laboratorio especializado y personal de laboratorio calificado, hacen que solo se realice en laboratorios de referencia en países en vías de desarrollo, mientras que en países desarrollados se realiza de manera habitual.

Las pruebas rápidas (point of care, POC, por sus siglas en ingles) son una alternativa para los países en vías de desarrollo, donde usar una prueba de amplificación de ácidos nucleicos resulta muy costoso por las exigencias que esta requiere. Las pruebas rápidas para *C. trachomatis* han sido desarrolladas para ser realizadas en menos de treinta minutos, no requieren equipamiento costoso ni personal altamente calificado, son empacadas de manera individual y los resultados son leídos de forma cualitativa [3, 4, 5].

Aunque diversos estudios han evaluado el desempeño de las pruebas rápidas en países desarrollados, en nuestro país no se dispone de información sobre el uso de pruebas rápidas para la detección de la infección por *C. trachomatis* en mujeres.

Esta investigación “Comparación de una prueba rápida y una prueba de amplificación mediada por transcripción para el diagnóstico de infección por *C. trachomatis* utilizando hisopados endocervicales” me permitió determinar la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y la concordancia mediante la determinación del índice Kappa de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA con la prueba de amplificación mediada por transcripción: ensayo APTIMA COMBO 2 ASSAY ® en muestras de secreción endocervical de mujeres que asisten al consultorio de planificación familiar de un Hospital Nacional y en trabajadoras sexuales del consultorio del servicio de PROCETTS.

La información obtenida en esta investigación, me permitió tener información acerca del uso de las pruebas rápidas para la detección de *C. trachomatis* en el Perú.

II. MARCO TEÓRICO

La infección por *C. trachomatis* es la ITS bacteriana más frecuente en todo el mundo [6]. La Organización Mundial de la Salud estima que 90 millones de casos ocurren a nivel mundial [7]. En Estados Unidos, la infección genital por *C. trachomatis* es la enfermedad infecciosa reportada con mayor frecuencia y la prevalencia es más alta en personas menores de 25 años de edad [8]. En base al tamizaje selectivo de la población de mujeres jóvenes sexualmente activas, la proporción de infectadas oscila entre un 8% y 40%, con una media de 15% [9]. En estudios realizados en América Latina se encuentra una prevalencia de 5% [10]. En el Perú encontramos una prevalencia que varía de acuerdo a las poblaciones en que se estudiaron: 6,5% en mujeres jóvenes [10], 6,8% en mujeres de áreas rurales [11], 9,6% en adolescentes, 9,0% en mujeres jóvenes, 5,4% en mujeres mayores [12], 12,4% en mujeres sintomáticas con disuria y descarga vaginal [13] y 14,9% en mujeres con conducta sexual de alto riesgo [14].

C. trachomatis tiene afinidad por las células de las membranas mucosas es por esto que ellas se encuentran en la superficie del cérvix, uretra, recto, nasofaringe y conjuntiva, entrando a estas células por un proceso de fagocitosis. En las células infectadas, *C. trachomatis* se desarrolla en vesículas intracitoplasmáticas o cuerpos de inclusión, dentro de estos cuerpos de inclusión se lleva a cabo el desarrollo morfológico y se observa dos partículas distintas:

los cuerpos elementales, partículas densas e infecciosas, las cuales se transforman dentro de la célula hospedera en formas grandes y menos densas, los cuerpos reticulares. Estos últimos no son infecciosos pero si metabólicamente activos, los cuerpos reticulares sintetizan proteínas y su propio ADN y ARN, luego se replican por fisión binaria para formar microcolonias dentro de los cuerpos de inclusión. Entre 18 y 24 horas post infección, los cuerpos reticulares se dividen y en última instancia algunos se reorganizan en un gran número y liberan los cuerpos elementales, los cuales pueden infectar nuevas células hospederas [15].

La infección por *C. trachomatis* es la mayor causa de morbilidad reproductiva; la más seria de estas incluye enfermedad pélvica inflamatoria, embarazo ectópico e infertilidad [1, 6, 7]. La mayoría de las personas infectadas por *C. trachomatis* desconocen de su infección porque no tienen síntomas, el 80% de mujeres infectadas son asintomáticas, por lo que no buscan atención médica.

Los países desarrollados tienen programas nacionales de tamizaje para *C. trachomatis*, la gran mayoría de las muestras no invasivas son procesadas por la metodología de amplificación de los Ácidos nucleicos [16]. En contraste, estos programas no existen en los países en vías desarrollo y sub-desarrollados [17]. En consecuencia el diagnóstico y tratamiento de la infección por *C. trachomatis* está basado en el manejo sintomático que tiene baja especificidad para la

infección en mujeres [18, 19]. En ausencia de un programa de tamizaje, la infección por *C. trachomatis* frecuentemente no es detectada [6,20].

Las pruebas diagnósticas de laboratorio disponibles para detectar *C. trachomatis* son diversas. Históricamente el cultivo es considerada como la prueba estándar o de oro, las células infectadas desarrollan características intracitoplasmáticas de inclusiones que contienen un número considerable de cuerpos y elementos reticulares de *C. trachomatis*, estos son detectados por coloración con fluoresceína [6, 3]. La sensibilidad del cultivo puede variar del 60% al 85% [3]. En la inmunofluorescencia directa (IFD), el antígeno que se detecta puede ser proteína mayor de membrana (MOMP) o lipopolisacárido (LPS). Las muestras que se emplean pueden ser obtenidas mediante hisopado o cepillado endocervical. La inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales, anti-MOMP, se considera muy sensible cuando es realizada por un microscopista con experiencia [6]. Estudios que han utilizado el cultivo como referencia, demostraron tener una sensibilidad de 92% y una especificidad de 98%. Cuando se compara con NAAT la IFD tiene una sensibilidad de entre 80% a 85% y una especificidad de 99% [21]. En otro grupo tenemos numerosos ensayos inmunoenzimáticos (EIA) para la detección de antígenos de *C. trachomatis*. Estos detectan LPS con anticuerpos monoclonales y policlonales. Una desventaja de los métodos de EIA es su alta probabilidad de dar resultados falsos positivos, en estudios se describe un 36% de falsos positivos [22], por reacciones cruzadas con otros microorganismos, incluyendo otras especies de *Chlamydia* [3].

Los enzimoimmunoensayos que detectan anticuerpos, no son específicos para anticuerpos de *C. trachomatis*, en un estudio realizado en Inglaterra se demostró que más de la mitad hacían reacción cruzada con *C. psittaci* y *C. pneumoniae* [23]. Recientemente las pruebas NATTS que incluyen Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR); Reacción en Cadena de la Ligasa (LCR), Amplificación por Desplazamiento de Cadenas (SDA) y Amplificación Mediada por Transcripción (TMA) [3]. Las pruebas de amplificación de los Ácidos Nucleicos al igual que otras pruebas que no incluyan cultivo, no requieren organismos vivos y tienen una alta sensibilidad por la habilidad de detectar copias de ADN o ARN del organismo blanco [3] en los estudios realizados dan como resultados: sensibilidad entre 90% - 100% y especificidad entre 98% - 100% [24, 25].

La mayoría de las Pruebas de Amplificación de Ácidos Nucleicos comerciales cuentan con aprobación de la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) para detectar *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* en hisopado endocervical de mujeres, hisopado uretral de hombres, y orina de hombres y mujeres [6]. Algunas pruebas han sido autorizadas en hisopados vaginales y existen muchos estudios que han usado hisopado vaginal autocolectado, con resultados similares a los de hisopado endocervical [1, 8].

Las pruebas rápidas para *C. trachomatis* son pruebas de inmunocromatografía que detectan antígenos LPS. Estas pruebas proveen un diagnóstico rápido que podría ayudar a limitar la cadena de transmisión y la morbilidad asociada a *C. trachomatis* [1]. La OMS ha desarrollado los criterios ASSURED (por sus siglas

en ingles) en los que se considera criterios como punto de referencia para decidir si se usan las POC como pruebas para atender una determinada enfermedad. Los criterios son: accesibilidad, sensibilidad, especificidad, uso amigable, rápido, libre de equipos y de fácil distribución [26]. Se necesita una prueba menos laboriosa, inmediata y que tenga alta sensibilidad y especificidad, para implementar programas de tamizaje y mejorar las actuales estrategias de tratamiento; esto ayudar a prevenir complicaciones tales como enfermedad inflamatoria pélvica, infertilidad, embarazo ectópico, además de la posible transmisión de *C. trachomatis* por contacto sexual que suele producirse en el intervalo entre la adquisición de la infección, el diagnóstico y el tratamiento estándar [27].

III. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

- Hallar el desempeño de una prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA para la detección de antígenos de *C. trachomatis* comparado con la prueba APTIMA COMBO 2.

2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Hallar la sensibilidad y especificidad de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA, para la detección de antígenos de *C. trachomatis*, comparado con la prueba APTIMA COMBO 2.
- Hallar los valores predictivo positivo (VPN) y valor predictivo negativo (VPP) de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA para la detección de antígenos de *C. trachomatis*, comparado con la prueba APTIMA COMBO 2.
- Hallar los valores predictivo positivo (VPN) y valor predictivo negativo (VPP) de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA para la detección de antígenos de *C. trachomatis*, comparado con la prueba APTIMA COMBO 2.
- Hallar el valor Kappa de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA para la detección de antígenos de *C. trachomatis*, comparado con la prueba APTIMA COMBO 2.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO Y LUGAR DE ESTUDIO

4.1.1 Diseño del estudio

Estudio observacional, transversal

4.1.2 Lugar del estudio

Consultorio de planificación familiar del “Hospital Nacional Dos de Mayo” y consultorio del Programa de Control de Enfermedades de Transmisión Sexual y SIDA (PROCETTS) del Centro de Salud “Alberto Barton”.

El estudio se llevó a cabo en el periodo 2010-2011.

4.2. POBLACION Y MUESTRA

4.2.1 Población

La población considerada para la entrega de muestras fueron las usuarias del consultorio de planificación familiar del “Hospital Nacional Dos de Mayo” y las usuarias trabajadoras sexuales del consultorio del Centro de Salud “Alberto Barton”.

4.2.2 Muestra y tamaño de muestra

Se invitó a participar a las usuarias de ambos consultorios, las que aceptaron y cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión fueron 101, considerando que este estudio es la Fase 1 en la evaluación de una prueba diagnóstica [28].

4.2.3 Criterios de inclusión y exclusión

4.2.3.1 Criterios de inclusión

- Tener entre 18 y 40 años de edad, rango de edades en los que la prevalencia de *C. trachomatis* es mayor.
- Ser usuarias de consultorio de planificación familiar de “Hospital Nacional Dos de Mayo” o del servicio de PROCETS del Centro Salud “Alberto Barton”.
- Estar en condiciones de dar consentimiento informado
- Aceptar participar en el estudio

4.2.3.2 Criterios de exclusión

- Haber tomado antibióticos los últimos 30 días.
- Estar menstruando.
- Estar embarazadas.
- Ser Puérperas.
- No estar en condiciones de proporcionar consentimiento informado.

NOTA:

No se consideró como criterio de exclusión la aplicación de duchas, cremas vaginales ni lavados vaginales pues las pruebas no son afectadas por estas.

4.3 MATERIALES

Los materiales empleados para el desarrollo de este estudio, fueron los siguientes:

- Pruebas rápidas HEXAGON CHLAMYDIA (casa comercial: Lab Dealers, lote: H087, fecha de vencimiento: 03-2011)
- Kit de colección APTIMA (lote: 579502A, fecha de vencimiento: 15/09/2011)
- Ensayo APTIMA COMBO 2® (lote: 579502A, fecha de vencimiento: 15/09/2011)
- Puntas 1mL estériles.
- Hisopos de dracón, estériles e individuales.
- Especulo vaginal individual y estéril.
- Tubos de transporte estéril Falcon x 5mL.

4.4. MÉTODOS

4.4.1 Aspectos éticos

El enrolamiento se realizó de acuerdo a la asistencia de las participantes a la consulta en ambas instituciones en las que se realizó el estudio. A todas las pacientes que acudieron a la consulta se les explicó la investigación que se estaba realizando y se les mencionó los criterios de inclusión y exclusión. A las pacientes que aceptaron, en adelante las participantes, se les explicó todo el proceso de la investigación.

A cada participantes individualmente se le leyó o leyó el Consentimiento Informado (ver anexo 1), de estar de acuerdo la participante lo firmó y se

le entrego una copia idéntica de este documento. Luego, se realizaron las preguntas de la ficha de recolección de datos (ver anexo 2) y finalmente se les explicó el procedimiento de toma de muestra de la secreción endocervical.

4.4.2 Colección de la muestra

La colección de la muestra, realizada por el médico ginecólogo del consultorio consistió en tomarles dos hisopados de secreción endocervical por separado. Se insertó el primer hisopo de poliéster en el canal endocervical hasta que la mayor parte del extremo del hisopo penetre por un tiempo aproximado de 30 segundos, esta muestra se introdujo en el medio de transporte de la prueba APTIMA COMBO 2, rotulado previamente con el código de barras que se le asignó a cada participante, después se realizó una limpieza del exceso de moco con un hisopo de algodón, para que no interfiera con la prueba rápida según recomendaciones del fabricante. La segunda muestra utilizada para la prueba rápida, fue tomada de la misma forma e introducida en un tubo de plástico estéril rotulado con el código de barras de la participante.

4.4.3 Traslado y conservación de muestras

Ambas muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Salud Sexual-LID UPCH, a 4° C. El primer hisopo fue conservado a -20° C para su posterior procesamiento con la prueba APTIMA COMBO 2 y el segundo hisopo fue procesado por la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA según las indicaciones del fabricante.

4.4.4. Procesamiento de las muestras

4.4.4.1 Prueba rápida de inmuncromatografía para la detección directa del antígeno de *Chlamydia trachomatis* en muestras extraídas

Estabilidad de las muestras: 24 horas a temperatura ambiente.

72 horas a 2° C – 8° C.

A. Extracción de la muestra

1. Se sumergió el hisopo en el frasco de extracción llamado “TUBE” y se rotó vigorosamente por 10 segundos para asegurar una adecuada mezcla de la muestra de raspado con la solución de extracción.
2. Se colocó TUBE que contenía el hisopo con la muestra en una gradilla y se dejó de 10 a 15 minutos a temperatura ambiente.
3. Se giró el hisopo 2 a 3 veces por algunos segundos durante el tiempo de extracción mientras se presionaba contra las paredes del “TUBE”.
4. Al final del tiempo de extracción, se removió el líquido completamente del hisopo girándolo contra la pared del tubo mientras se iba sacando del “TUBE”.
5. Se descartó el hisopo siguiendo las normas de manejo de agentes infecciosos, el extracto pudo permanecer a temperatura ambiente por 30 minutos sin afectar los resultados de la prueba.

B. Procedimiento de la prueba

La muestra y la prueba rápida estuvieron a temperatura ambiente antes que se realicen.

1. Se sacó la prueba rápida de su empaque protector y se colocó en una superficie plana.
2. Se rotuló la prueba rápida con el número del código de barras, con lo que se identificó a la participante.
3. Se cerró el "TUBE", se rompió la punta de la tapa roja y se aplicó 4 gotas (150 – 200ul) de la muestra extraída en la ventana de muestra.
4. Se permitió que cada gota se absorba antes de agregar la siguiente.
5. Se evitó la formación de burbujas en la ventana de reacción.
6. La prueba se incubó y leyó después de 20 minutos de agregar la muestra extraída a la ventana de muestra.
7. Los resultados permanecieron estables por una hora después de agregar la muestra extraída a la placa.

Interpretación de Resultados



Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

Negativo (Fig. 1)

Aparece una línea control (C) rojo violeta en la parte superior de la ventana de resultado, demostrando que la prueba se efectuó correctamente

Positivo (Fig. 2 y 3)

Aparece una segunda línea de prueba color rojo violeta en la parte superior de la ventana indicando un resultado positivo para el antígeno de *Chlamydia trachomatis* en la muestra. Aun una línea débil indica un resultado positivo. Puede haber distinta intensidad de color entre las líneas de control y de prueba pero no afecta la interpretación del resultado.

No válido (Fig. 4)

Si no aparece línea control (C), aun si aparece una línea de prueba, repita la prueba con un nuevo TEST, siguiendo cuidadosamente el procedimiento.

4.4.4.2 Amplificación mediada por transcripción APTIMA COMBO 2

Tecnología TMA para la Detección de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*.

A. TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Después de la colección, el transporte y el almacenamiento del hisopo en el tubo de transporte de muestra se conservaron a 4°C hasta analizarse.

B. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO BASADO EN LA TECNOLOGÍA TMA

1. Preparación de equipos

Se ajustó el baño maría a 62 +/- 1°C para el TC (target capture), un segundo baño maría a 42 +/- 1°C para la amplificación y un tercer baño maría a 62 +/- 1°C para el DKA.

Antes de empezar el ensayo, se limpió cuidadosamente todas las superficies y pipetas con lejía casera al 50% (diluir 1:1 con agua) se dejó la lejía en contacto con las superficies y pipetas por al menos 1 minuto y luego se siguió con agua para enjuagarlos. Se cubrió las superficies donde se trabajara con un paño absorbente limpio.

Se colocó un número adecuado de TTC (cajas de 10 Puntas) dentro del TCS (Target Capture System). Se confirmó que la botella del lavador TCS esté llena con la solución de lavado APTIMA y el aspirador haya estado conectado a la bomba de vacío.

2. Preparación y reconstitución de reactivos.

Este paso se realizó antes de comenzar la transferencia de la muestra

Reconstitución de los reactivos para el APTIMA: Enzima Combo, Amplificación y sonda (probe). Se emparejó cada reactivo (solución y deshidratado).

Se abrió el reactivo deshidratado y se insertó firmemente el lado cortado al accesorio proporcionado dentro del vial de vidrio.

Se abrió la solución de reconstitución, se colocó sobre el campo de trabajo, se insertó el vial deshidratado que ya tenía el accesorio colocado y se unió los dos viales. Se invirtió suavemente en un ángulo de 45° para mezclarlos y se dejó por 30 minutos. Se quitó el vial de vidrio y se procedió a eliminarlo.

Los reactivos reconstituidos con anterioridad estuvieron a temperatura ambiente (15°C – 30°C) antes de empezar el trabajo.

Preparación del TCR (target capture reagent) plus y TCR B.

Se determinó el número de reacciones a ser realizadas (especímenes más controles)

Se calculó los volúmenes de TCR y TCR reactivo B como sigue

Volumen de TCR (mL) = (número de reacciones + 5 reacciones extras) x 0.1 mL

Volumen de TCR-B (mL) = (volumen de TCR mL)/100

Se transfirió el volumen calculado de TCR en un vial limpio seco y del tamaño apropiado y luego se agregó el TCR – B calculado dentro de la solución. Se mezcló completamente la solución por inmersiones.

El TCR más el TCR-B es estable por 24 horas a temperatura ambiente.

3. Captura de blanco

Las pipetas repetidoras usadas en el la captura del blanco y en la amplificación fueron de uso exclusivo en estos pasos.

Cargado de las muestras: Se dejaron las muestras a temperatura ambiente antes del procesamiento.

En la gradilla de multitubos TTU (Ten tube unit), se colocó suficientes TTUs para acomodar los controles y especímenes que se evaluaron (a partir de ahora en el procedimiento se usará la palabra gradilla para referirse a todos los tubos que están colocados en ella).

Se creó una hoja de trabajo en este momento.

Se mezcló completamente el reactivo TCR más TCR-B. Se usó una pipeta repetidora y se agregó 100 µL en cada tubo de reacción.

Se agregó 400 µL del control positivo de CT en la primera posición de la gradilla, seguido del control positivo GC y luego los especímenes.

SE USO UN NUEVA PUNTA PARA CADA TUBO.

Se cubrió la gradilla con las tarjetas selladoras y se agito gentilmente a mano. Se incubó el TTU a 62 +/-1 °C en baño María por 30 +/-5 minutos.

Se retiró la gradilla del baño María y se secó la parte de abajo de los tubos.

Se mezcló los TTU de la gradilla por 60 segundos en el vórtex multitubos.

Sin remover las tarjetas adhesivas, se incubó la gradilla a temperatura ambiente por 30 +/- 5 minutos.

Se llevó la gradilla a la base magnética TCS por 5 a 10 minutos.

Se preparó la estación de dispensado por bomba, para esto se bombeó la botella en la boquilla de drenaje, varias veces hasta que se este seguro de haber eliminado las burbujas del canal de la manguera.

Se encendió la bomba de vacío y se desconectó el aspirador múltiple en el primer conector entre el aspirador múltiple y el seguro de la botella. Se dejó la bomba de vacío encendida hasta que todos los pasos de la captura del blanco hayan estado completos.

Se conectó firmemente el aspirador múltiple en la primera fila de las puntas. Se aspiró todo el líquido.

Luego que la aspiración se completó, se expulsaron las puntas dentro de la caja de las puntas. Se repitió el paso de la aspiración con el resto de puntas (otros múltiples de 10 unidades) para la otra fila de muestras.

Se cogió la botella dispensadora en la unidad y se dispensó 1.0 mL de la solución de lavado dentro de cada tubo de los TTU.

Se cubrió los tubos con una nueva tarjeta adhesiva y se sacó la gradilla que contenían los tubos del TCS. Se mezcló una vez en el vórtex multitubos.

Se colocó la gradilla en la base del TCS magnetic por 5 a 10 minutos y luego se aspiró todo el líquido.

Luego de la aspiración final, se removió la gradilla de la base TCS y se visualizó que todo el líquido haya sido aspirado.

4. Amplificación

Se usó una pipeta repetidora, se agregó 75 μ L de reactivo de amplificación reconstituido a cada tubo de reacción, después de este paso todos los tubos deberían tomar un color rojo.

Usando la pipeta repetidora se agregó 200 μ L de reactivo aceite.

Se cubrió la gradilla con una tarjeta adhesiva nueva y se mezcló en el vórtex multitubos.

Se incubó la gradilla en baño María a $62 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 10 ± 5 minutos.

Se transfirió la gradilla dentro de un nuevo baño María a $42 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 5 ± 2 minutos.

Con la gradilla aun dentro del baño María se removió cuidadosamente la tarjeta adhesiva y se agregó 25 μ L del reactivo de Enzima reconstituido. Toda la reacción ahora cambió a un color naranja.

Se cubrió inmediatamente los tubos con una nueva tarjeta adhesiva, se sacó del baño María y se mezcló la reacción por agitación manual.

Se incubaron las gradillas a $42 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 60 ± 15 minutos.

5. Ensayo de doble cinética (DKA).

Las pipetas usadas en la Hibridización y selección se usaron solamente para estos pasos para evitar contaminación.

Hibridización.

Se sacó la gradilla del baño María y se transfirió al área de detección DKA. Se agregó 100 μ L del reactivo Probe (sonda) reconstituida, todas las mezclas de reacción dieron un color amarillo.

Se cubrió la gradilla con una tarjeta adhesiva y mezcló en el vórtex multitubos.

Se incubó la gradilla en un baño María a 62 \pm 1°C por 20 \pm 5 minutos.

Se removi6 la gradilla del baño María e incubó a temperatura ambiente por 5 \pm 1 minuto.

Selección

Se usó la pipeta repetidora para agregar 250 μ L de reactivo de selección a cada tubo de la gradilla. Después de este paso todas las reacciones tomaron un color rojo.

Se cubrió la gradilla con una tarjeta adhesiva, se mezcló por 10 segundos e incubó la gradilla en un baño María a 62 \pm 1 °C por 10 \pm 1 minutos.

Se removi6 la gradilla del baño María.

Detección

La detección se llevó a cabo a temperatura entre 18°C a 28°C. Se incubó la gradilla entre 18° a 28°C por 15 \pm 3 minutos.

Para usar el LEADER HC+ Luminometer en el Software APTIMA combo 2, referirse al manual del equipo.

Se preparó el lector antes mencionado colocando una unidad de TTU vacíos en la posición 1 del casete y se desarrolló el protocolo de lavado.

Colocar los TTUs de la gradilla dentro del luminómetro.

Se encendió la computadora y se presionó el botón o comando en NEW RUN e ingresó el número de tubos (controles y especímenes).

Se presionó el botón o comando en NEXT para comenzar la corrida.

Se preparó la solución tampón con lejía (solución de desactivación) mezclando volúmenes iguales de lejía comercial casera con fluido de desactivación APTIMA tampón dentro de un frasco grande con tapa.

Luego que se removi6 los TTUs usados del luminómetro, se colocaron los TTUs dentro de un recipiente con la solución preparada de desactivación. Se dejó los TTUs en el recipiente por 15 minutos antes de descartar.

6. Resultados

Interpretación de la Prueba: Los resultados de la Prueba son automáticamente interpretados por el software del APTIMA combo 2 y presentadas como un resultado individual CT y GC. Un resultado en este prueba puede ser Negativo, Equívoco, Positivo o inválido determinado por el tipo de cinética y el RLU total en el paso de detección (ver tabla de abajo). Una prueba puede dar resultado inválido debido a que un parámetro esta fuera de los rangos normales

esperados. Los resultados iniciales de equívoco e inválidos deberán ser repetidos.

Tipo de cinética	RLU total (x1000) para dar un resultado para CT		
	Negativo	Equivoco	Positivo
Solo CT	1 a <25	25 a <100	100 a <3000
CT y GC	1 a <85	85 a <250	250 a <3000
CT indeterminado	1 a <85	85 a <3000	N/A

Resultados de la prueba de pacientes.

Si los controles en alguna corrida no dieran los resultados esperados, los resultados de los especímenes de los pacientes en la misma corrida no deberán ser reportados.

Resultados de especímenes de hisopados y orina.

Resultado Inicial

CT Pos: Positivo para *C. trachomatis* rRNA

CT Neg: Presumiblemente Negativo para *C. trachomatis* rRNA

CT Equiv: La muestra debe ser re-analizada.

7. Problemas

Valores Bajos de control positivo pueden ser causados por temperaturas incorrectas durante varios pasos en el ensayo o por permitir excederse en el tiempo del paso de Selección más que el recomendado.

Altas lecturas de fondo (Background) pueden ocurrir si el tiempo de SELECCIÓN en el paso de selección es muy corto, la temperatura es incorrecta o una incorrecta mezcla luego de adicionar el reactivo de selección.

Si el control positivo de CT es positivo o equivocado para GC y viceversa revisar la parte de contaminación de ensayo.

4.4.5 Registro de los resultados

Todos los resultados fueron consignados en tablas de Microsoft Excel®, creadas para tal fin, para su posterior análisis.

4.5 ANÁLISIS DE DATOS

El análisis de la información se realizó en el programa Microsoft Office Excel® 2003.

Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA frente a la prueba APTIMA COMBO 2 basada en el método de amplificación mediada por transcripción.

Se determinó el índice de correlación Kappa entre la prueba de evaluación y la prueba estándar (ver anexo 3).

V. RESULTADOS

Se analizaron dos grupos de muestras haciendo un total de 101 (100.0 %), el primer grupo conformado por muestras de secreción vaginal provenientes de mujeres que acuden al servicio de planificación del “Hospital Nacional Dos de Mayo”, de este grupo de 50 muestras, 4 (8.0 %) dieron positivo a la prueba de Amplificación Medida por Transcripción. El segundo grupo de muestras de secreción vaginal proveniente de 51 mujeres trabajadoras sexuales que acuden al servicio de PROCETSS del Centro de Salud Alberto Barton, no arrojó resultado positivo alguno (ver tabla 1).

Del total de las participantes, 67 participantes afirmaron que no usaban preservativo, este grupo estaba comprendido por la totalidad de las mujeres que asisten al servicio de planificación familiar y 17 trabajadoras sexuales, en este grupo se encontraron todos los casos positivos a *C. trachomatis*, mientras que en el grupo de mujeres que si usa preservativo no se encontró ningún caso.

Las fotos 1 y 2, nos muestra un ejemplo de los resultados positivo y negativo, para la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA evaluada en este estudio.

El anexo 4 nos muestra un ejemplo de una corrida del APTIMA COMBO 2.

La prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA al ser evaluada con la prueba de Amplificación Mediada por Transcripción arrojó una sensibilidad de 75,0% y una

especificidad de 84,5% y un valor de concordancia de 0,21. El valor predictivo positivo de la prueba fue de 16,7% y el valor predictivo negativo fue de 98,7%.

TABLA 1

Comparación de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA con la prueba de Amplificación Mediada por Transcripción para el diagnóstico de infección por *C. trachomatis* en mujeres que se atienden en ambos centro de salud. (n=101)

<i>Prueba rápida Hexagon Chlamydia</i>	<i>PRUEBA TMA</i>		TOTAL
	RESULTADO POSITIVO	RESULTADO NEGATIVO	
REACTIVO	2,97 % (3)	14,85 % (15)	17,82 % (18)
NO REACTIVO	0,99 % (1)	81,19 % (82)	82,18 % (83)
TOTAL	3,96% (4)	96,04 % (97)	100% (101)

FOTO 1

Resultado negativo de la prueba rápida de inmunocromatografía HEXAGON CHLAMYDIA. Se observa una sola línea purpura que indica la reacción del control interno.

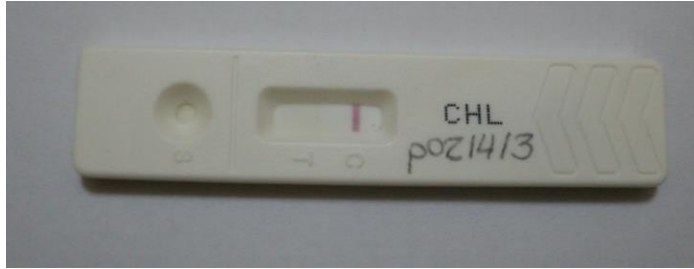
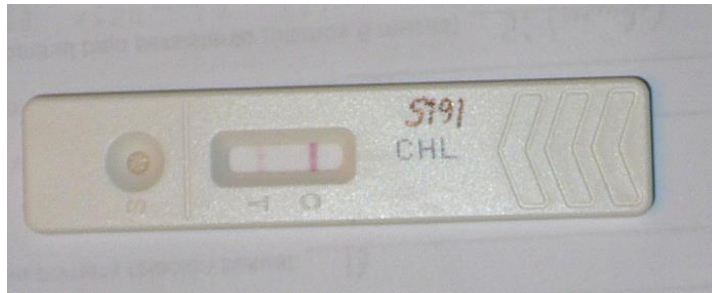


FOTO 2

Resultado positivo de la prueba rápida de inmunocromatografía HEXAGON CHLAMYDIA. Se observa dos líneas purpuras que indica la reacción del control interno de la prueba y de la muestra procesada.



VI. DISCUSIÓN

El cultivo de células ha sido la prueba de oro para el diagnóstico de infección de *C. trachomatis* [3]. Recientemente el estándar más aceptado para validar pruebas para la detección de *C. trachomatis* son pruebas de detección de ácidos nucleicos por tener mayor sensibilidad y especificidad, incluso superior a la del cultivo [2]. Estas metodologías se usan en laboratorios de referencia o de investigación, pero su uso en centros médicos es limitado aún por los requerimientos laboratoriales y su mayor costo, en este contexto se desarrollan las pruebas rápidas, en respuesta a la demanda de un diagnóstico inmediato que proporcione ayuda en el manejo y prevención de posibles casos secundarios.

La sensibilidad de la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA es inferior a la reportada en el inserto que ofrece la casa comercial, en donde las sensibilidades varían entre 88% y 100%, dependiendo de la prueba que se usó como referencia; la diferencia en la sensibilidad reportada se debería a que se ha comparado con una prueba de Amplificación de Ácidos Nucleicos, mientras los fabricantes utilizaron el cultivo celular, EIAS e inmunofluorescencia. Como también ha sido reportado en un estudio realizada en China en el año 2006, en donde evaluaron la prueba rápida *Clearview Chlamydia MF* donde compararon con una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR Cobas Amplicor CT/NG) donde obtuvieron una sensibilidad de 49,7% [4]. La sensibilidad obtenida por la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA en este estudio es cercana a

la sensibilidad que han obtenido en una investigación realizada en Reino Unido, en donde el “standard de oro” fue una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR Cobas Amplicor CT/NG) donde la sensibilidad fue de 83,5% [5], pero superior a las sensibilidades que reportan otro estudios como el realizado por Van Dommelen presentado en el año 2010, en donde se evaluó y comparó el desempeño de tres marcas de pruebas rápidas, en los que se obtuvieron 17,1% para Biorapid Chlamydia Ag test, 25% para QuickVue Chlamydia test y 22,5% para Handilab-C, la metodología para la comparación de las tres pruebas fue una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR Cobas Amplicor CT/NG) [29].

La especificidad reportada en este estudio es inferior a la sugerida en el inserto de la prueba rápida, en donde se muestra especificidades que varían entre 98% y 100% dependiendo de los métodos de referencia. La especificidad que se obtuvo es inferior a la reportada en estudios previos. En la investigación en donde se evaluó la prueba *Clearview Chlamydia MF* obtuvieron una especificidad de 97,9% [4], así mismo en el estudio en donde se evaluó la prueba *Chlamydia Rapid Test* obtuvieron una sensibilidad de 98,8% [5].

Por último en la investigación realizada por Van Dommelen en el año 2010, donde se evaluaron tres pruebas rápidas de diferentes marcas: Biorapid Chlamydia Ag Test, QuickVue Chlamydia test, obtuvieron: 93,7%, 99,7% y 88,8% de especificidad respectivamente [29]. Todas las pruebas rápidas en los

estudios previos tuvieron una especificidad superior a la prueba HEXAGON CHLAMYDIA.

En este estudio se encontró una gran cantidad de falsos positivos que condiciona un valor predictivo positivo bajo, probable explicación a esto sería una reacción cruzada con otros microorganismos del tracto reproductivo, moco o hematíes que no se consiguieron eliminar con la limpieza previa a la toma de muestra, como ha sido reportado previamente [4] y/o a condiciones medio ambientales de la prueba en evaluación. En un estudio similar donde se evaluaron tres marcas diferentes de pruebas rápidas para la detección de *C. trachomatis* se encontró que el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de las marcas BioRad Chlamydia y HandiLab- C, dieron resultados similares, 24,6%-19,8% y 90,4% respectivamente [29]. El valor de concordancia entre la prueba rápida en evaluación y la prueba de Amplificación Mediada por Transcripción, demuestra que ambas pruebas tienen diferente desempeño mostrando una baja correlación.

Considerando los criterios ASSURED de la OMS para la prueba en evaluación, la falencia de la prueba es su baja sensibilidad y su bajo valor predictivo positivo. La prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA que hemos evaluado no podría usarse para diagnosticar *Chlamydia trachomatis*, con los resultados obtenidos más del 80% de mujeres con un resultado positivo por la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA tendría un diagnostico incorrecto, lo que llevaría a un tratamiento

innecesario con antibióticos y los problemas psicosociales que un resultado positivo para una infección de transmisión sexual trae consigo.

Un hallazgo importante en este estudio fue que todos los resultados positivos se hallaron en muestras colectadas en amas de casa quienes usaban algún método anticonceptivo como las píldoras o los inyectables, es decir estos casos están positivamente relacionados con el no uso de preservativos. Mientras que las trabajadoras sexuales, en las que no se encontró ningún caso positivo, usan como método anticonceptivo de barrera el preservativo. Esto se puede sustentar con publicaciones donde se menciona que el uso sostenible de preservativo disminuye el riesgo de adquirir *C. trachomatis* [30, 31].

La comparación en esta investigación se realizó con una prueba de amplificación de los ácidos nucleicos puesto que no se tiene disponibilidad de la prueba de oro. Es así como se han realizado varios estudios de evaluación de pruebas rápidas comparándolas con pruebas moleculares [4, 5, 29]; entre ellas la prueba APTIMA COMBO 2 basada en la metodología TMA ha demostrado el mejor desempeño [25, 32, 33], además de contar con la autorización de la FDA para el diagnóstico in vitro de *C. trachomatis* desde el año 2001.

En resumen, se encontró que la prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA en este estudio tiene un pobre desempeño al ser comparada con el método de amplificación mediada por transcripción: APTIMA COMBO 2.

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA para la detección directa de antígenos tiene una sensibilidad de 75% y una especificidad de 84,5% cuando es comparada con el método de amplificación mediada por transcripción: APTIMA COMBO 2.
- La prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA para la detección directa de antígenos tiene un valor predictivo positivo de 16,7% y un valor predictivo negativo de 98,7% cuando es comparada con el método de amplificación mediada por transcripción: APTIMA COMBO 2.
- La prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA en este estudio tiene un pobre desempeño al ser comparada con el método de amplificación mediada por transcripción: APTIMA COMBO 2.
- Debieran desarrollarse mejores pruebas rápidas con nuevas tecnologías, que puedan superar la sensibilidad y especificidad de las pruebas existente.
- La prueba rápida HEXAGON CHLAMYDIA no podría ser usada para el diagnóstico de *C. trachomatis* por su bajo desempeño.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. U.S. Department of Health and Human Services, Center for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2006. MMWR. 2006; 55(RR-11):1-94.
2. Martin DH, Nsuami M, Schachter J, Hook EW, Ferrero D, Quinn TC, et al. Use of Multiple Nucleic Acid Amplification Tests To Define the Infected-Patient "Gold Standard" in Clinical Trials of New Diagnostic Tests for *Chlamydia trachomatis* Infections. J. Clin Microbiol. 2004; 42: 4749-58.
3. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Screening tests to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections, 2002. MMWR. 2002; 51(RR-19): 1-8.
4. Yin YP, Peeling RW, Chen XS, Gong, KL, Zhou H, Gu WM, et al. Clinic-based evaluation of Clearview Chlamydia MF for detection of *Chlamydia trachomatis* in vaginal and cervical specimens from women at high risk in China. Sex Transm Infect. 2006; 82: v33-37.

5. Mahilum-Tapay L, Laitila V, Wawrzyniak JJ, Lee HH, Alexander S, Ison C, et al. New point of care Chlamydia Rapid Test—bridging the gap between diagnosis and treatment: performance evaluation study. *Brit Med J*. 2007; 335: 1190-1194.
6. Michel CC, Sonnex CC, Christopher A, White JA, Magbanua JP, Nadal EC, et al. *Chlamydia trachomatis* Load at Matched Anatomic Sites: Implications for Screening Strategies. *J Clin Microbiol*. 2007; 45: 1395-1402.
7. World Health Organization. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview & estimates. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2001. Disponible en: http://www.who.int/hiv/pub/sti/en/who_hiv_aids_2001.02.pdf.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2004. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, National Center for HIV, STD, and TB Prevention; 2005. Disponible en: <http://www.cdc.gov/std/stats04/trends2004.htm>
9. Cates WJ, Wasserheit JN, Genital chlamydial infections: Epidemiology and reproductive sequelae. *Am J Obstet Gynecol*. 1991; 164: 1771-1781.

10. Cárcamo CP, Campos PE, García PJ, Hughes JP, Garnett GP, Holmes KK. Prevalences of sexually transmitted infections in young adults and female sex workers in Peru: a national population-based survey. *Lancet Infect Dis.* 2012;12:765-73.
11. García PJ, Chavez S, Feringa B, Chiappe M, Li W, Jansen KU, Cárcamo C, Holmes KK. Reproductive tract infections in rural women from the highlands, jungle, and coastal regions of Peru. *Bull World Health Organ.* 2004;82:483-92.
12. Paul KJ, Garcia PJ, Giesel AE, Holmes KK, Hitti JE. Generation C: prevalence of and risk factors for *Chlamydia trachomatis* among adolescents and young women in Lima, Peru. *J Womens Health.* 2009;18:1419-24.
13. Garcia PJ, Carcamo CP, Chiappe M, Holmes KK. Sexually transmitted and reproductive tract infections in symptomatic clients of pharmacies in Lima, Peru. *Sex Transm Infect.* 2007; 83: 142-146.
14. León SR, Konda KA, Klausner JD, Jones FR, Cáceres CF, Coates TJ, y col. *Chlamydia trachomatis* infection and associated risk factors in a low-income marginalized urban population in coastal Peru. *Pan American Journal of Public Health.* 2009; 26:39–45.

15. Stine G.J. The Biology of Sexually Transmitted Diseases: Wm C. Brown, USA. 1992.
16. National Chlamydia Screening Programme Steering Group. New frontiers: annual report of the national Chlamydia screening programme in England 2005/06. London: Health Protection Agency, 2006. Disponible en: www.hpa.org.uk/publications/2006/ncsp/
17. Davies SC, Otto B, Partohudoyo S, Chrisnadarmani V, Neilsenga CL, y col. Sexually transmitted infections among female sex workers in Kupang, Indonesia. Sex Transm Dis. 2003; 30: 671-9.
18. Dallabeta GA, Gerbase AC, Holmes KK. Problems, solutions, and challenges in syndromic management of sexually transmitted diseases. Sex Transm Infec. 1998; 74:S1-11.
19. Shelton JD. Prevention first: a three-pronged strategy to integrate family planning programme efforts against HIV and sexually transmitted infections. Int Fam Plan Perspect. 1999; 25: 127-52.
20. Gaydos CA, Theodore M, Dales N, Wood BJ, Quinn TC. Comparison of Three Nucleic Acid Amplification Tests for Detection of *Chlamydia trachomatis* in Urine Specimens. J Clin Microbiol. 2004; 42: 3041-3045.

21. Suchland KL, Counts JM, Stamm WC. Laboratory methods for detection of *Chlamydia trachomatis*: Survey of laboratory in Washington State. J Clin Microbiol. 1997; 35: 3210-4.
22. Hipp SS, Han Y, Murphy D. Assessment of enzyme immunoassay and immunofluorescence tests for detection of *Chlamydia trachomatis*. J Clin Microbiol. 1987 October; 25: 1938–43.
23. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. Clin Microbiol Rev. 1997; 10: 160–84.
24. Ferrero DV, Meyers HN, Schultz DE, Willis SA. Performance of the Gen-Probe AMPLIFIED *Chlamydia trachomatis* Assay in detecting *Chlamydia trachomatis* in endocervical and urine specimens from women and urethral and urine specimens from men attending sexually transmitted disease and family planning clinics. J. Clin. Microbiol. 1998;36 :3230–33.
25. Gaydos CA, Quinn TC, Willis D, Weissfeld A, Hook EW, Martin DH, Ferrero DV, Schachter J. Performance of the APTIMA Combo 2 assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. J Clin Microbiol. 2003; 41: 304-9.

26. Peeling RW, Holmes KK, Mabey D, Ronald A. Rapid tests for sexually transmitted infections (STIs): the way forward. *Sex Transm Infect.* 2006; 82(Suppl V):v1–v6.
27. Hook EW, Spitters C, Reichart CA, Neumann TM, Quinn TC. Use of Cell Culture and a Rapid Diagnostic Assay for *Chlamydia trachomatis* screening. *J Am Med Assoc.* 1994; 272: 867-70.
28. Boelaert M, Bhattacharya S, Chappuis F, El Safi SH, Asrat H, Mondal D, et al. Evaluation of rapid diagnostic tests: visceral leishmaniasis. *Nat Rev Microbiol.* 2007; 5: S30- S39.
29. Van Dommelen L, Van Tiel FH, Ouburg S, Terporten PH, Savelkoul PH, Morre SA, et al. Alarmingly poor performance in *Chlamydia trachomatis* point-of-care testing. *Sex Transm Infect.* 2010; 86: 355-59.
30. Niccolai LM, Rowhani-Rahbar A, Jenkins H, Green S, Dunne DW. Condom effectiveness for prevention of *Chlamydia trachomatis* infection. *Sex Transm Infect.* 2005;81:323–25.
31. Holmes K, Levine R, Weaver M. Effectiveness of condom in preventing sexually transmitted infections. *Bulletin of the World Health Organization.* 2004; 82: 452-461.

32. Scragg S, Bingham A, Mallinson H. Should *Chlamydia trachomatis* confirmation make you cross? Performance of collection kits tested across three nucleic acid amplification test platforms. Sex Transm Inf. 2006; 82: 295 -97.
33. Ho MK, Lo JC, Lo AC, Cheng FK, Chan FK. Evaluation of replacing the existing diagnostic strategy for *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections with sole molecular testing of urine specimens in a sexually transmitted infection clinic setting. Sex Transm Inf, 2009; 85: 322 – 325.

IX. ANEXOS

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

- **PROPÓSITO**

Dina Cecilia Florencia Rojas Páez, alumna de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica de la Facultad de Medicina, asesorada por el Mg. José Antonio Paredes Arrascue y el Mg. Segundo Ramos León Sandoval, se encuentra realizando un estudio de investigación acerca del desempeño de una prueba rápida el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*. Se te está solicitando que participes en este estudio porque tú eres parte de la población de interés.

Esperamos reclutar un mínimo de 100 mujeres en este proyecto.

Tu participación en este estudio es VOLUNTARIA, nadie puede obligarte a participar si no lo deseas. Tu decisión de participar o no, no va a afectar tus posibilidades de acceder a servicios de atención para tu salud. Debes también saber que toda la información que tú des será guardada CONFIDENCIALMENTE, o sea, sólo será conocida por las personas autorizadas que trabajan en este estudio y por nadie más.

- **PROCEDIMIENTOS**

Si aceptas participar en el estudio y firmas el consentimiento, sucederá lo siguiente:

1. Entrevista: Primero, un entrevistador te preguntará sobre tu salud y registrará tus respuestas en un cuestionario escrito. Las preguntas incluyen temas sobre actividad sexual, problemas de salud y enfermedades transmitidas sexualmente. Esta entrevista durará alrededor de 15 minutos.

2. Muestras de secreciones vaginales: Finalmente, el médico te tomara una muestra de secreción endocervical.

3. Información para Contactarte:

En la misma visita, se te preguntará si deseas darnos tu nombre o un apodo o seudónimo. Tú puedes negarte a dar cualquier otra información y aún así participar del estudio.

4. Resultados de las Pruebas de laboratorio:

Se te pedirá regresar al mismo lugar para que recojas tus resultados aproximadamente un mes más tarde. Si por algún motivo no hubieras podido recoger tus resultados, puedes contactarnos al teléfono 986003957 ó 987777974 para saber cuándo y dónde recogerlos.

Resultados Positivos

Si estás infectada con *C. trachomatis* se le indicará a tu médico para que recibas el tratamiento adecuado

- **RIESGOS E INCOMODIDADES POTENCIALES**

Riesgos a la Privacidad y Confidencialidad

Participar en una investigación puede involucrar pérdida de privacidad. Si bien tus respuestas van a ser conocidas por el (la) entrevistador(a), te aseguramos que la información que proporciones se guardará con la mayor confidencialidad posible. Tu nombre no va a ser utilizado en ningún reporte o publicación que resulte de este estudio. Los cuestionarios con tus respuestas a las preguntas de la entrevista se mantendrán en un armario bajo llave y serán destruidos después de finalizado el estudio. Tu nombre está separado de los resultados de tus pruebas.

Análisis para Chlamydia trachomatis

Hacerte los análisis de *C. trachomatis* puede causarte preocupación o intranquilidad, independientemente de los resultados de las pruebas, por eso antes y después de hacerte los análisis un(a) consejero(a) (el médico) te informará sobre el significado de los resultados de esas pruebas y sobre cómo prevenir esas enfermedades.

Hisopado endocervical

Los riesgos del hisopado endocervical pueden incluir molestia temporal en el área de la vagina y raramente infección.

Entrevista

Algunas preguntas podrían hacerte sentir incómoda, pero puedes no contestarlas y puedes también interrumpir la entrevista en cualquier momento.

- **BENEFICIOS QUE SE ANTICIPAN PARA LOS PARTICIPANTES**

No habrá ningún beneficio directo para ti por participar en la entrevista. Sin embargo, recibirás información sobre la infección por *C. trachomatis* y cómo prevenirla.

Si recoges los resultados de tus análisis, te podrías beneficiar sabiendo si estás infectada o no con *C. trachomatis*.

- **BENEFICIOS QUE SE ANTICIPAN PARA LA SOCIEDAD**

Este estudio podría ayudar a conocer el desempeño de esta prueba rápida en mujeres peruanas, para tener evidencia de confiabilidad de dicha prueba, para que esta pueda ser usada como una prueba de tamizaje en el diagnóstico de *C. trachomatis*

- **ALTERNATIVAS A TU PARTICIPACION**

Tú puedes decidir no participar en este estudio. Tienes también la opción de hacerte por tu cuenta la prueba para detectar *C. trachomatis* en un laboratorio particular o en un centro de salud, en lugar de participar en este estudio.

- **OBLIGACIÓN FINANCIERA**

No habrá ningún costo para ti por participar en este estudio.

- **PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD**

Las únicas personas que sabrán que estás participando son los integrantes del equipo de investigación, y si hiciera falta tu médico y enfermera. Tu código de participante será guardado en un archivo con llave en nuestra oficina también cerrada con llave. No se le dará información tuya o información provista por ti durante el proyecto a nadie, sin tu permiso por escrito.

- **LA ELECCION DE PARTICIPAR**

LA PARTICIPACION EN EL ESTUDIO ES VOLUNTARIA. Tú eres libre de decidir no participar o de retirarte en cualquier momento.

- **CONTACTO CON LOS INVESTIGADORES**

Si tienes alguna pregunta o comentario sobre tu participación en este estudio, puedes llamar al Mag. Segundo León al teléfono 481-1782.

- **DERECHOS DE LOS PARTICIPANTES EN LA INVESTIGACIÓN**

Al participar en este estudio, no estás renunciando a ningún tipo de derechos. Si tienes preguntas sobre tus derechos como participante en la investigación, puedes contactarte con el Comité de Ética del Hospital Nacional Dos de Mayo, que se encarga de la protección de las personas en los proyectos de investigación; allí puedes contactar con el Dr. Edwin Ramírez, Presidente del Comité de Ética del Hospital Nacional Dos de Mayo, al teléfono 3280028 anexo 8234.

- **FIRMA DEL PARTICIPANTE**

He leído (o alguien me ha leído) la información provista arriba. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas satisfactoriamente. Se me ha dado una copia de este consentimiento.

AL FIRMAR ESTE FORMATO, ESTOY DE ACUERDO EN PARTICIPAR EN FORMA VOLUNTARIA EN LA INVESTIGACIÓN QUE AQUÍ SE DESCRIBE, SABIENDO QUE

**PODRE RETIRARME EN CUALQUIER MOMENTO Y ANTE CUALQUIER DUDA
PODRE LLAMAR A LOS NÚMEROS QUE AQUÍ SE MENCIONAN.**

Nombre del Participante

Fecha

Firma del Participante

- **FIRMA DEL INVESTIGADOR**

Le he explicado este proyecto al participante y contestado todas sus preguntas. Creo que ella comprende la información descrita en este documento y accede a participar en forma voluntaria.

Nombre del Investigador/a

Firma del Investigador/a

Fecha (tiene que ser el mismo día cuando firma el participante)

ANEXO 2

CODIGO DE
BARRAS

ENTREVISTA

Datos de la participante

Iniciales de ambos apellidos y ambos nombres: _____

Fecha de nacimiento (DD/MM/AA): _____

Datos demográficos

Edad: _____

Grado de educación: _____

Estado civil: _____

Conducta sexual

Número de parejas sexuales en los últimos 3 meses: _____

Uso condón en los últimos 3 meses: _____

Uso condón en los últimos 3 meses, con parejas no estables: _____

Sexo con otro hombre en los últimos 6 meses _____

Edad de su primera relación sexual: _____

Síntomas

Descarga vaginal (últimos 6 meses) _____

Dolor abdominal bajo (últimos 6 meses) _____

Dolor abdominal bajo persistente (últimos 6 meses) _____

ANEXO 3

Resultado de la prueba rápida	Resultado del TMA		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	Verdaderos positivos	Falsos positivos	Resultado positivo
Negativo	Falso negativo	Verdadero negativo	Resultado negativo
TOTAL	Casos	No casos	Población total

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{falsos negativos}}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Falsos positivos} + \text{verdaderos negativos}}$$

$$\text{Valor predictivo positivo} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Total de resultados positivos}}$$

$$\text{Valor predictivo negativo} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Total de resultados negativos}}$$

K: Índice de correlación Kappa

$$K = \frac{(p_o - p_c)}{(1 - p_c)}$$

$$p_o = \frac{\text{Verdaderos positivos} + \text{verdaderos negativos}}{\text{Población total}}$$

$$p_c = (\text{Casos} \times \text{verdaderos positivos} / \text{población total}^2) + (\text{No casos} \times \text{resultado negativo} / \text{población total}^2)$$

